

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

007618252

WPI Acc No: 1988-252184/198836

XRAM Acc No: C88-112414

XRPX Acc No: N88-191810

New virus causing post transfusion non-A, non-B hepatitis - with derived
immune sera and antibodies, is used in diagnosis and treatment

Patent Assignee: INST PASTEUR (INSP)

Inventor: PILLOT J

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
FR 2609807	A	19880722	FR 87701738	A	19870211	198836 B

Priority Applications (No Type Date): US 86945891 A 19861224

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
FR 2609807	A		14		

Abstract (Basic): FR 2609807 A

New purified viral agent, according to claims 1-5 of the parent patent, is implicated in epidemic, sporadic, post-transfusional non-A, non-B viral hepatitis (NANBVH).

Also new are (1) immunological reagents (A) for detecting NANBVH (according to chain 15 of the parent patent) comprising immunoglobulins isolated from the serum of humans recovering from NANBVH infection or from the serum of artificially infected animals; (2) prodn. of anti-NANBVH antibodies (Ab) from artificially infected animals, and (3) the virus strain (H-SET' (ECACC 87.02.05.02) isolated from the faeces of a patient with post-transfusional NANBVH.

USE - The new viral agent is used to detect antibodies in blood and blood prods., using the methods of claims 1-8 of the parent patent. (A) are used to diagnose NANBVH infection by testing faeces, while Ab can be used therapeutically.

(19) **RÉPUBLIQUE FRANÇAISE**
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication : **2 609 807**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)
(21) N° d'enregistrement national : **87 01738**
(51) Int Cl^e : G 01 N 33/576; C 12 N 7/02, 7/04; A 61 K 39/42.

(12) **DEMANDE DE CERTIFICAT D'ADDITION** **A2**
À UN BREVET D'INVENTION

- | | |
|---|--|
| <p>(22) Date de dépôt : 11 février 1987.</p> <p>(30) Priorité : US, 24 décembre 1986, n° 945 891.</p> <p>(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPi « Brevets » n° 29 du 22 juillet 1988.</p> <p>(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés : 1^{re} addition au brevet 86 15625 pris le 7 novembre 1986.</p> | <p>(71) Demandeur(s) : <i>Fondation reconnue d'Utilité Publique : INSTITUT PASTEUR. — FR.</i></p> <p>(72) Inventeur(s) : Jacques Pilot.</p> <p>(73) Titulaire(s) :</p> <p>(74) Mandataire(s) : Cabinet Ores.</p> |
|---|--|
- (54) Réactifs immunologiques pour la détection de l'hépatite virale NANB, leurs procédés de préparation et leurs applications dans des procédés de détection de l'hépatite virale NANB et en tant qu'agents thérapeutiques.

(57) L'invention concerne un nouvel agent viral purifié impliqué dans l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique et post-transfusionnelle et son utilisation en tant que réactif de diagnostic.

Elle concerne également un réactif immunologique pour la détection de l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle et un procédé d'isolement d'anticorps anti-NANB aptes à être utilisés en tant que de tels réactifs immunologiques.

Applications desdits anticorps anti-NANB au diagnostic de l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle et en tant qu'agents thérapeutiques.

FR 2 609 807 - A2

La présente Addition a pour objet de compléter les travaux exposés et revendiqués dans le Brevet principal.

Il a été établi conformément au Brevet principal que le virus NANB épidémique est fréquemment impliqué dans
5 l'hépatite NANB sporadique et qu'il s'agit, en fait, d'un même agent viral responsable aussi bien de la forme épidémique que de la forme sporadique de l'hépatite NANB.

D'autre part, bien que l'agent NANB épidémique soit considéré comme un virus véhiculé par l'eau, son rôle
10 dans l'hépatite sporadique laissait à penser à l'Inventeur qu'il pouvait être transmis par d'autres voies que l'eau et notamment par la voie sanguine transfusionnelle.

Par ailleurs, l'Inventeur a mis au point des réactifs de diagnostic utilisables dans la méthode de diagnostic
15 nostic de l'hépatite NANB décrite et revendiquée dans le Brevet principal et il a également développé un kit prêt à l'emploi pour la réalisation de ladite méthode de diagnostic.

A cet égard, le Brevet principal décrit un mode
20 de mise en oeuvre du procédé de détection des anticorps présents dans le sang d'un malade atteint d'hépatite NANB ou d'un convalescent d'hépatite NANB, ou dans des produits utilisés en transfusion sanguine ou dans des fractions dérivées de sang et ayant été en contact avec le virus
25 agent causal de l'hépatite NANB tel que défini dans le Brevet principal, selon lequel mode de mise en oeuvre le sérum du malade ou du patient convalescent est mis en contact avec la préparation virale conforme au Brevet principal (ou avec une fraction de celle-ci) après centrifugation
30 et isolement de la bande correspondant à une densité de 1,28-1,32.

Egalement conformément au Brevet principal, il est possible de caractériser une activité anticorps dans les IgM d'un patient en vue d'un diagnostic sérologique

très précoce de la maladie, en utilisant des anti-IgM humaines ou bien en captant les IgM d'un sérum et en les faisant réagir avec le virus ou ses fractions et en caractérisant l'antigène fixé sur l'IgM du malade.

- 5 La présente Addition a pour objet des réactifs immunologiques pour la détection de l'hépatite NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle, qui sont caractérisés en ce qu'ils sont constitués par des immunoglobulines isolées du sérum de convalescents humains ou de sérum
10 de singes préalablement infectés par le virus de l'hépatite NANB, lesquels réactifs sont aptes à former un immuncomplexe antigène-anticorps lorsqu'ils sont incubés avec des extraits de fèces contenant des antigènes d'hépatite NANB.

- 15 Selon un mode de réalisation avantageux des réactifs immunologiques conformes à la présente Addition, ceux-ci sont aptes à former un immuncomplexe par incubation avec des extraits de fèces d'individus contaminés par du virus NANB selon l'invention et purifiés par centrifugation et filtration.

- 20 La présente Addition a également pour objet un réactif immunologique pour la détection de l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle, caractérisé en ce qu'il est constitué par un anticorps anti-hépatite NANB préparé à partir de sérums d'animaux arti-
25 ficiellement infectés par ingestion d'extraits de fèces de patients atteints d'hépatite virale NANB ou de sérums d'animaux immunisés par le virus NANB ou ses fractions purifiées.

- 30 Selon un mode de réalisation avantageux de ce réactif immunologique, l'anticorps anti-hépatite NANB (IgM ou IgG) est fixé sur un support solide.

- 35 Selon une modalité avantageuse de ce mode de réalisation, le support solide revêtu d'anticorps anti-hépatite NANB est en outre recouvert d'une protéine, telle que BSA en particulier, de préférence en solution tamponnée.

Le réactif immunologique conforme à la présente Addition est mis en oeuvre dans le procédé de détection d'antigène NANB conforme au Brevet principal en l'incubant avec des extraits de fèces ou des produits sanguins ou
5 du sérum de patients, puis avec des fractions d'anticorps purifiés à partir de sérums de patients convalescents d'hépatite NANB épidémique, ou de sérums d'animaux infectés artificiellement, immunisés contre ce virus, lesdits anticorps étant marqués par une enzyme convenable telle que
10 la β -galactosidase, par exemple. La réaction est développée à l'aide d'un substrat révélateur approprié tel que l'ortho-nitrophényl- β -D-galactopyranoside.

Le procédé de diagnostic in vitro de la présence du virus de l'hépatite NANB conforme au Brevet principal
15 et à la présente Addition consiste donc à mettre en contact un sérum ou un autre milieu biologique d'un patient dont on cherche à établir le diagnostic, avec au moins une des protéines ou des glycoprotéines du virus NANB ou avec un lysat viral ou avec un extrait viral, puis à détecter la
20 réaction immunologique par la méthode ELISA ou par une autre méthode immunoenzymatique ou une méthode par immunofluorescence, qui peut mesurer directement ou indirectement l'immunofluorescence ou la réaction immunoenzymatique.

C'est la raison pour laquelle la présente Addition
25 englobe également les extraits viraux marqués, qu'ils soient marqués par une enzyme, par fluorescence ou qu'ils soient marqués par un radioisotope.

Les méthodes d'immunodétection comprennent, comme on le sait :

- 30 - le dépôt de quantités d'extrait spécifique ou des protéines virales conformes à l'invention, dans ou sur un support tel que les puits d'une microplaque de titration ;
- l'introduction de dilutions croissantes du
35 sérum à diagnostiquer sur ledit support, tel que lesdits

puits ;

- l'incubation du support tel que la microplaque susdite ;

5 - le lavage soigneux du support tel que la microplaque susdite à l'aide d'un tampon convenable ;

- l'introduction d'anticorps anti-immunoglobuline humaine marqués spécifiques dans ou sur le support tel que les puits de la microplaque susdite, le marquage étant réalisé par une enzyme choisie parmi celles capables
10 d'hydrolyser un substrat de telle manière que l'absorption de radiations par ce dernier soit modifiée au moins dans une bande spécifique de longueurs d'ondes, et

- la détection, de préférence de manière comparative, par rapport à un témoin, de la quantité de substrat
15 hydrolysé, à la fois par la mesure du produit biologique dangereux et par la présence effective de la maladie.

La présente Addition a également pour objet un kit -ou ensemble- prêt à l'emploi pour la réalisation du procédé de diagnostic (recherche de l'anticorps ou du virus
20 NANB) conforme au Brevet principal et à la présente Addition, lequel kit est caractérisé en ce qu'il comprend :

- un extrait ou une fraction purifiée de l'agent viral conforme au Brevet principal, lequel extrait ou fraction est marqué, par exemple par un radioisotope, une
25 enzyme ou par immunofluorescence ;

- des anti-immunoglobulines humaines ou une protéine A éventuellement fixées sur un support insoluble dans l'eau tel que sphères d'agarose ou de latex, magnétiques ou non ;

30 - des tampons et, si nécessaire, des substrats pour visualiser les marquages.

Le réactif apte à être utilisé pour la détection d'hépatite NANB conforme à la présente Addition, est préparé et utilisé comme décrit ci-après.

35 Des singes sont artificiellement infectés par

ingestion d'extraits de fèces de patients atteints d'hépatite NANB épidémique.

Les sérums de singes utilisés sont ceux collectés le 27ème jour après l'infection, à partir des singes infectés artificiellement comme indiqué plus haut. Ces sérums sont chromatographiés sur une colonne de gel de dextrane dans un tampon Tris-NaCl 0,1M, pH 8 pour isoler les anticorps recherchés qui sont des IgM anti-NANB.

Les IgM ainsi isolées sont fixées sur des supports solides, tels que de préférence des plaques de PVC, en mettant les IgM à des concentrations d'environ 10 à 50 µg de protéines par ml de PBS, en contact avec les supports solides pendant 18 à 24 heures à +4°C. Il est préféré que ces plaques de PVC revêtues des IgM anti-hépatite NANB, soient ensuite recouvertes d'une couche de PBS contenant 1 % de BSA (sérumalbumine bovine) et 0,1 % de "Tween 20". Les plaques de PVC doublement revêtues sont alors prêtes à l'usage en tant que réactif de diagnostic utile pour la détection de l'agent viral associé à l'hépatite NANB.

Le procédé de diagnostic conforme au Brevet principal et à la présente Addition commence de préférence par l'incubation desdites plaques de diagnostic avec des extraits de fèces à diagnostiquer, pendant 1 heure à 37°C. Les plaques sont ensuite incubées avec des fractions d'IgG obtenues par purification de sérums de patients convalescents d'hépatite NANB épidémique, par chromatographie sur une colonne de DEAE-Trisacryl et marquées par une enzyme, de préférence la bêta-galactosidase, d'hydrolyse d'un substrat révélateur en présence duquel a lieu la réaction, et qui est de préférence l'orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside.

En complément de la méthode de détection décrite dans le Brevet principal, elle peut consister à rechercher la présence d'anticorps NANB dans le sérum ou autre milieu biologique d'un malade ou d'un convalescent ; en pareil

cas, le sérum est mis en contact avec la préparation virale conforme au Brevet principal - collectée par exemple après centrifugation et isolement de la bande de densité à 1,28-1,32 g/cm³ correspondante -, ou avec une fraction de cette
5 préparation virale ; cette préparation virale, ou l'une de ses fractions, est mise en réaction avec une préparation d'IgM ou d'IgG qui revêt les parois d'une microplaque d'une manière bien connue de l'Homme de l'Art. La formation d'un immuncomplexe (virus ou fraction de celui-ci - Anticorps
10 humains anti-virus) s'oppose alors à la révélation de l'antigène qu'il contient par l'IgG de convalescent marquée par exemple par une enzyme.

La recherche d'anticorps à l'aide de cette méthode de détection peut être effectuée dans le sang de malades
15 ou de convalescents, dans les produits utilisés dans les transfusions sanguines et dans les fractions dérivées du sang de personnes ayant été exposées à l'agent causal de l'hépatite NANB tel que défini dans le Brevet principal, dont les souches I-617 et I-616 et celles présentant une
20 réaction immunologique croisée avec ces deux souches de référence, notamment la souche isolée de patients atteints d'hépatite NANB post-transfusionnelle, dont les propriétés immunologiques sont identiques à celles de la souche I-617, et qui est identifiée comme souche virale "H-SET" déposée
25 le 5 Février 1987 sous le No 87.02.05.02 auprès de la Collection ECACC (Grande-Bretagne).

Bien que les données cliniques et épidémiologiques aient pu suggérer que la forme épidémique de l'hépatite NANB présentée par des patients atteints d'hépatite NANB
30 épidémique est due à un virus différent de celui qui est à l'origine de l'hépatite NANB post-transfusionnelle transmise par injection parentérale, conformément à la présente Addition l'Inventeur a pu isoler de patients atteints d'hépatite NANB post-transfusionnelle une nouvelle souche de
35 virus NANB dont les propriétés immunologiques sont pratique-

ment identiques à celles des souches déposées le 30 Octobre 1986 sous les Nos I-616 et I-617 auprès de la CNCM de l'Institut Pasteur. Des tests sérologiques très sensibles de présence de virus HAV et HBV ont permis d'exclure ces
5 deux virus en tant qu'agents étiologiques et d'exclure, de même, d'autres virus hépatotropes tels que le cytomegalovirus, le virus d'Epstein-Barr et le virus de la fièvre jaune.

La présente Addition a en outre pour objet un
10 nouvel agent viral purifié impliqué dans les formes sporadique, épidémique et post-transfusionnelle de l'hépatite NANB. Ce virus se distingue des virus HAV et HBV en ce qui concerne l'homologie antigénique de ses protéines en tant que matériel génétique.

15 Les compositions préparées conformément au Brevet principal et à la présente Addition (antigènes viraux purifiés, protéines recombinantes obtenues par l'expression du virus NANB dans des cellules procaryotes ou eucaryotes ou peptides synthétiques déduits de la séquence du génome)
20 peuvent être utilisées pour le diagnostic de l'hépatite NANB ou pour la vaccination propre à induire la synthèse d'une réponse immune protectrice après administration à l'hôte.

La présente invention englobe toutes les compositions
25 tions de ce type contenant un antigène présentant des propriétés immunologiques équivalentes à celles du virus NANB Clamart (CNCM I-617) ou Côte d'Ivoire (CNCM I-616). En effet deux protéines ou antigènes sont considérés comme équivalents dans le cadre de la présente invention lorsqu'ils
30 sont capables d'être reconnus par les mêmes anticorps. Les produits exprimés par des séquences correspondantes du matériel génétique codant des séquences génétiques correspondantes sont, par suite, compris dans le cadre de tels antigènes équivalents.

35 La présente Addition englobe également les sérums

pouvant être produits à partir d'animaux par inoculation à ces derniers de virus NANB à l'aide des compositions précitées. En particulier la présente Addition englobe les anticorps polyclonaux spécifiquement dirigés contre
5 chacun des antigènes du virus NANB. Elle englobe également les anticorps monoclonaux susceptibles d'être obtenus par les méthodes classiques et dirigés plus spécifiquement contre les antigènes du virus NANB.

Ces anticorps polyclonaux et monoclonaux peuvent
10 être utilisés dans un grand nombre d'applications au nombre desquelles on peut citer la neutralisation de l'antigène correspondant ou du virus total. Ils peuvent être utilisés pour détecter des antigènes viraux dans des préparations biologiques ou pour purifier des antigènes correspondants.

15 La présente Addition englobe également tout virus de l'hépatite NANB équivalent présentant les mêmes caractéristiques immunologiques. Les travaux menés par l'Inventeur ont montré la relation immunologique entre les matériels antigéniques isolés d'extraits de fèces de malades atteints
20 respectivement d'hépatite NANB épidémique, sporadique et post-transfusionnelle.

C'est ainsi que la souche de type Clamart (déposée sous le No I-617 auprès de la CNCM et également déposée auprès de la Collection ECACC sous le No 87.02.05.02) a
25 été isolée à partir des selles d'une malade qui présentait une hépatite aigüe NANB dument caractérisée comme hépatite NANB transfusionnelle. Les selles contenaient l'antigène conforme au Brevet principal, précédemment caractérisé dans les hépatites épidémiques (Côte d'Ivoire) et sporadiques
30 (France).

Un antigène associé au virus de l'hépatite NANB a été caractérisé pendant 15 jours à la phase aigüe de la maladie. D'autres cas similaires ont été observés avec caractérisation du même antigène dans les selles et isole-
35 ment d'un virus présentant les caractéristiques immunologi-

ques identiques aux virus I-616 et I-617.

Il résulte des travaux de l'Inventeur que ce virus, appelé virus de l'hépatite NANB épidémique, sporadique et transfusionnelle (en abrégé : "H-SET") est responsable de l'apparition d'hépatite de type non A non B chez des malades transfusés.

Une étude comparative comprenant des malades polytransfusés sans hépatite infectieuse et des malades atteints d'hépatite A ou B a montré l'absence d'antigène associé au virus dans leurs selles et l'absence de virus cultivables dans les conditions dans lesquelles le virus "H-SET" se multiplie. La souche "H-SET" I-617 isolée des selles d'un malade souffrant d'hépatite NANB transfusionnelle, a pu être cultivée sur cellules PLC/PRP5 dans les conditions décrites dans le Brevet principal. Les lésions correspondant notamment à de nombreuses formations syncytiales apparaissent à J6-J7 précédant le décollement des cellules infectées. Un procédé identique de culture pourra être utilisé par l'Homme de l'Art pour un isolement du virus à partir d'un prélèvement sanguin. Les cultures infectées peuvent être utilisées comme source d'antigène non purifié en vue de la caractérisation à leur surface des molécules d'anticorps provenant d'un sujet ayant contracté l'infection (le complexe virus-anticorps étant révélé à l'aide d'anti-immunoglobulines humaines marquées).

La souche Clamart s'est avérée infectante pour deux singes rhésus (inoculation par ingestion (per os) avec 0,5 ml d'un extrait de selle à 10 %) avec apparition de l'antigène dans les selles entre les 20e et 24e jours après l'inoculation et avec augmentation des transaminases entre le 28e et le 32e jours (signe caractéristique d'atteinte hépatique).

REVENDICATIONS

1.- Nouvel agent viral purifié selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 du Brevet principal, caractérisé en ce qu'il est constitué par un agent viral purifié
5 impliqué dans l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique et post-transfusionnelle.

2.- Réactif immunologique pour la détection de l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle, par le procédé selon la revendication 15 du
10 Brevet principal, caractérisé en ce qu'il est constitué par des immunoglobulines isolées de sérum de convalescents humains ou de sérum d'animaux préalablement artificiellement infectés par le virus de l'hépatite NANB.

3.- Réactif immunologique selon la revendica-
15 tion 2, caractérisé en ce qu'il est constitué par un anticorps formé d'immunoglobulines préparées à partir de sérums d'animaux artificiellement infectés par ingestion d'extraits de fèces de patients atteints d'hépatite NANB épidémique.

20 4.- Réactif immunologique selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il est constitué par un anticorps anti-NANB préparé à partir de sérums d'animaux immunisés par le virus NANB ou ses fractions purifiées.

25 5.- Réactif immunologique selon la revendication 2, 3 ou 4, caractérisé en ce que l'anticorps anti-NANB est fixé sur un support solide.

6.- Réactif immunologique selon la revendication 5, caractérisé en ce que le support solide revêtu d'anticorps anti-NANB est en outre revêtu de protéines.

30 7.- Procédé d'isolement d'anticorps anti-NANB de sérums d'animaux artificiellement infectés par ingestion d'extraits de fèces de patients atteints d'hépatite NANB épidémique, caractérisé en ce que lesdits sérums sont chromatographiés sur une colonne de dextrane dans du tampon
35 Tris-NaCl 0,1M, pH 8 pour isoler les IgM anti-NANB.

8.- Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que les sérums d'animaux artificiellement infectés sont des sérums de singes, collectés à partir du 27e jour après l'infection par des extraits de fèces.

5 9.- Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce que les sérums isolés conformément à la revendication 6 sont fixés sur des supports solides, notamment sur des plaques en PVC, par contact entre les IgM à des concentrations de l'ordre de 10 à 50 μ g de protéines par ml de
10 PBS, et lesdits supports pendant 18 à 24 heures à +4°C environ.

10.- Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que lesdits supports solides, revêtus d'anticorps anti-NANB sont ensuite revêtus d'une couche de PBS contenant
15 0,1 % environ de BSA et 0,1 % environ de Tween 20.

11.- Procédé de détection d'anticorps dans le sang de patients ou dans des produits dérivés de sang caractérisé (a) en ce que l'on met en contact le sang ou le produit dérivé de sang avec un réactif constitué par un
20 agent viral selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 du Brevet principal, et (b) en ce que l'on identifie la présence d'anticorps de l'hépatite NANB virale dans ledit sang ou produit du sang.

12.- Procédé de diagnostic de l'hépatite virale
25 NANB sporadique, épidémique ou post-transfusionnelle dans des extraits de fèces, caractérisé en ce que l'on incube les plaques revêtues d'anticorps IgM selon la revendication 5 ou la revendication 6, (a) tout d'abord avec des extraits de fèces pendant 1 heure environ à 37°C environ,
30 puis (b) avec des fractions d'IgM ou d'IgG purifiées à partir de sérums de patients convalescents d'hépatite NANB épidémique et marquées par une enzyme, en présence d'un substrat révélateur convenable.

13.- Procédé de diagnostic selon la revendica-
35 tion 12, caractérisé en ce que les fractions d'IgG sont

marquées par la bêta-galactosidase et le substrat révélateur convenable est de préférence constitué par l'orthonitro-phényl-bêta-D-galactopyranoside.

14.- Procédé de diagnostic selon la revendication 5 12, caractérisé en ce que les fractions d'IgG marquées par une enzyme, sont obtenues à partir de sérums de patients convalescents d'hépatite NANB épidémique.

15.- Procédé de préparation des IgG mises en oeuvre selon la revendication 12, caractérisé en ce que 10 les IgG sont isolées par purification, de sérums de patients convalescents d'hépatite NANB épidémique, par chromatographie sur une colonne de DEAE-Trisacryl, puis elles sont marquées par une enzyme convenable, de préférence la bêta-galactosidase.

16.- Kit, ou ensemble, prêt à l'emploi pour le 15 diagnostic de l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle, caractérisé en ce qu'il comprend, outre les tampons, solvants et réactifs nécessaires à la mise en oeuvre du procédé de diagnostic selon 20 l'une quelconque des revendications 15 à 19 du Brevet principal ou selon l'une quelconque des revendications 12 à 14 de la présente Addition, au moins un réactif de diagnostic constitué par des IgM anti-NANB fixées sur un support solide, au moins un réactif constitué par des IgG marquées 25 par une enzyme conformément à la revendication 13, et au moins un substrat convenable de révélation de la réaction enzymatique.

17.- Kit de diagnostic de l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle, caractérisé 30 en ce qu'il comprend un extrait marqué de l'agent viral selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 du Brevet principal, des anti-immunoglobulines humaines, des tampons convenables et des réactifs de visualisation du marquage de l'agent viral.

35 18.- Agent thérapeutique pour le traitement de

l'hépatite virale NANB épidémique, sporadique ou post-transfusionnelle, caractérisé en ce qu'il comprend essentiellement un anticorps purifié dirigé contre l'agent viral selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 du Brevet principal.

19.- Agent thérapeutique selon la revendication 18, caractérisé en ce qu'il est essentiellement constitué par les IgM isolées définies selon l'une quelconque des revendications 2 à 6.

20.- Agent thérapeutique selon la revendication 18, caractérisé en ce qu'il est essentiellement constitué par des anticorps monoclonaux produits par un hybridome résultant de la fusion de cellules de myélome et de cellules spléniques de souris auxquelles ont été inoculés des agents viraux de l'hépatite NANB selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 du Brevet principal.

21.- Souche d'un agent viral purifié isolé des fèces d'un malade atteint d'hépatite virale NANB post-transfusionnelle, dite "Souche H-SET" déposée le 5 Février 1987 sous le N° 87.02.05.02 auprès de la Collection ECACC (Grande-Bretagne).